

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie  
Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki

Robert Chachaj

Stymulacja systemu immunologicznego i antyoksydacyjnego kurcząt  
i indyków rzeźnych żywionych paszą z udziałem fermentowanej  
poekstrakcyjnej śruty sojowej

Stimulation of the immune and antioxidative system of chickens and turkeys fed  
with feed with fermented soybean meal

Praca doktorska  
Doctoral thesis

Praca wykonana  
w Katedrze Biochemii i Toksykologii  
pod kierunkiem promotora  
**prof. dr hab. Katarzyny Ognik**  
oraz promotora pomocniczego  
**dr Anny Stępniewskiej**

Lublin 2020



## Streszczenie

Celem badań była weryfikacja hipotezy zakładającej, że poprzez zastosowanie w diecie indyków i kurcząt odpowiedniego udziału fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej w miejsce surowej poekstrakcyjnej śruty sojowej można stymulować system immunologiczny i antyoksydacyjny tych ptaków bez negatywnego wpływu na wyniki wzrostowe. W doświadczeniu 1 wykorzystano łącznie 600 jednodniowych kurcząt brojlerów Ross 308 przydzielonych do trzech grup eksperymentalnych po 200 ptaków każda. Grupa kontrolna (C) otrzymywała dietę, w której głównym źródłem białka była poekstrakcyjna śruta sojowa (SM). W pozostałych grupach doświadczalnych SM została częściowo zastąpiona przez fermentowaną poekstrakcyjną śrutę sojową (FSBM) w ilościach 3% - grupa FSBM-3% oraz 6% - grupa FSBM-6%. W doświadczeniu 2 wykorzystano łącznie 800 jednodniowych indyczek BIG 6 przydzielonych do 4 grup eksperymentalnych po 200 ptaków każda. Grupa kontrolna (FSBM<sub>0</sub>) otrzymywała dietę, w której głównym źródłem białka była poekstrakcyjna śruta sojowa. W pozostałych grupach doświadczalnych SM została częściowo zastąpiona przez fermentowaną poekstrakcyjną śrutę sojową (FSBM) w ilościach 7% - grupa FSBM<sub>7</sub>, 9% - grupa FSBM<sub>9</sub> oraz 10% - grupa FSBM<sub>10</sub>. Zastąpienie poekstrakcyjnej śruty sojowej (SM) fermentowaną poekstrakcyjną śrutą sojową (FSBM) w ilości 3 lub 6% w diecie kurcząt stymulowało ich system immunologiczny i antyoksydacyjny oraz pozytywnie wpłynęło na metabolizm białek. Zastąpienie SM 6% udziałem FSBM okazało się jednak korzystniejsze niż zastąpienie 3% udziałem FSBM, ponieważ poprawiło dodatkowo obraz histomorfometryczny i mikrobiologiczny jelita cienkiego oraz przyrosty masy ciała kurcząt. Zastosowanie 7% udziału FSBM w diecie dla indyków poprawiło obraz histomorfometryczny jelita cienkiego oraz stymulowało system immunologiczny i antyoksydacyjny. Zastosowanie wyższych poziomów FSBM (9 i 10%) w diecie indyków wprowadziło poprawia wyniki wzrostu, ale powoduje niepożądane reakcje utleniania w organizmie i wzrost poziomu IL-6, który może potencjalnie stymulować procesy zapalne w jelitach. Podsumowując można stwierdzić, że udział fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej w dietach dla kurcząt powinien wynosić 6%, natomiast dla indyków 7%. Jednak istnieje potrzeba dalszych badań weryfikujących czy w diecie indyków można zastosować mniejszy 6% udział FSBM uzyskując podobne rezultaty jak w przypadku stosowania 7% udziału FSBM.

**Słowa kluczowe** – fermentacja, śruta sojowa, indyki, kurczęta, odporność, metabolizm

## SPIS TREŚCI

1. WSTĘP .....	5
2. HIPOTEZA I CEL BADAŃ .....	7
3. MATERIAŁ I METODY BADAWCZE.....	7
3.1. Fermentowana poekstrakcyjna śruta sojowa.....	7
3.2. Materiał badawczy .....	7
3.3. Procedury doświadczalne.....	8
3.4. Metodyka analityczna .....	9
3.5. Analiza statystyczna.....	10
4. WYNIKI BADAŃ .....	10
4.1. Wyniki produkcyjne.....	10
4.2. Ocena histomorfometryczna oraz mikrobiologiczna jelit .....	11
4.3. Status immunologiczny .....	11
4.4. Status antyoksydacyjny .....	12
4.5. Wskaźniki metabolizmu.....	12
5. WNIOSKI .....	13
ANEKS – TABELE.....	14

## 1. WSTĘP

Jednym z głównych kosztów w produkcji drobiarskiej jest zakup mieszanki paszowej. Ze względu na wzrost światowych cen pasz w branży drobiarskiej istnieje tendencja do przechodzenia na alternatywne lub niekonwencjonalne składniki pasz. Możliwości te jednak często ograniczane są poprzez wysoką lub niską zawartość błonnika i białka oraz obecność czynników antyżywniowych (ANF) w niekonwencjonalnych składnikach paszowych, które mogą pogarszać strawność paszy oraz wyniki produkcyjne. W ostatniej dekadzie pojawiające się dane literaturowe wskazują, że zastąpienie lub zastosowanie nawet niewielkiego udziału fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej lub rzepakowej korzystnie wpływa na strawność paszy, mikrobiom przewodu pokarmowego, odporność, a w konsekwencji na wyniki produkcyjne drobiu.

Dowodzono, że fermentacja zwiększa zawartość białka surowego, biosyntezę niektórych aminokwasów i witamin, udział przyswajalnego fosforu do 80%, a zmniejsza zawartość włókna surowego w składnikach paszowych. Ponadto proces fermentacji śruty sojowej powoduje znaczne zmniejszenie (o 80%) zawartości ANF, takich jak garbniki, galaktooligosacharydy, inhibitory tripsyny, lektyny, polisacharydy nieskrobiowe (NSP) oraz białka alergenów (glicyna,  $\beta$ -konglicyna), które ograniczają jej stosowanie w diecie zwierząt monogastrycznych, zwłaszcza młodych. Ogromną zaletą fermentacji jest również to, że wzbogaca paszę w mikroorganizmy probiotyczne (np. *Lactobacillus sp.*, *Bacillus sp.* lub *Saccharomyces cerevisiae*). Włączenie fermentowanych komponentów wysokobiałkowych do diety dla zwierząt monogastrycznych ma korzystny wpływ na wyniki produkcyjne oraz fizjologię przewodu pokarmowego i dzięki właściwościom probiotycznym może sprzyjać ograniczeniu stosowania antybiotyków w produkcji drobiarskiej. Obecność bioaktywnych peptydów, a także duża liczebność bakterii kwasu mlekowego i związków przeciwutleniających w diecie zawierającej fermentowany komponent wysokobiałkowy może sprzyjać większej modulacji systemu immunologicznego

W dostępnej literaturze brakuje informacji o wpływie stosowania fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej na status antyoksydacyjny kurcząt, a dane na temat wpływu takiej diety na status immunologiczny i wskaźniki biochemiczne krwi są niewystarczające. Dotychczas nie zostało w pełni zbadane i ustalone przy jakim udziale FSBM w diecie kurcząt czy indyków możliwe jest uzyskanie poprawy statusu immunologicznego i antyoksydacyjnego. Autorzy nielicznych badań przeprowadzonych na kurczętach stosując w paszy od 0,5 do 3% FSBM potwierdzili jedynie korzystny wpływ na wyniki produkcyjne.

Pomimo silnych argumentów przemawiających za zastosowaniem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej w dietach dla drobiu, fermentowane surowce zawierają również związki, które mogą zmniejszać smakowitość pasz (np. kwas octowy) i niekorzystnie wpływać na reakcje metaboliczne (np. aminy biogenne wytwarzane podczas fermentacji takie jak kadaweryna, putrescyna i histamina). Ponadto fermentacja może również degradować niektóre składniki odżywcze, takie jak wolna lizyna. Pasza, w składzie której znajdują się fermentowane komponenty, może zawierać mniejsze ilości niektórych związków czynnych takich jak fitosterole, czy tokoferole w porównaniu z surowcem wyjściowym. Dlatego przy ustalaniu optymalnego udziału FSBM w diecie, który będzie stymulował system immunologiczny i antyoksydacyjny jednocześnie należy uwzględnić takie spektrum badań, na podstawie których można wnioskować o ewentualnym negatywnym oddziaływaniu tego komponentu diety na organizm.

## 2. HIPOTEZA I CEL BADAŃ

Założono, że poprzez zastosowanie w diecie indyków i kurcząt odpowiedniego udziału fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej w miejsce surowej poekstrakcyjnej śruty sojowej można stymulować system immunologiczny i antyoksydacyjny tych ptaków bez negatywnego wpływu na wyniki wzrostowe.

**Celem doświadczenia 1** było ustalenie, czy zastąpienie surowej poekstrakcyjnej śruty sojowej przez 3 i 6% udział fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej pozytywnie wpłynie na status immunologiczny i antyoksydacyjny, a także histologię i mikrobiom jelita cienkiego i wybrane wskaźniki metabolizmu kurcząt brojlerów.

**Celem doświadczenia 2** było ustalenie, czy zastąpienie surowej poekstrakcyjnej śruty sojowej przez 7, 9 i 10% udział fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej ma korzystny wpływ na status immunologiczny i antyoksydacyjny, a także morfometrię jelita cienkiego i wybrane wskaźniki metabolizmu indyków.

## 3. MATERIAŁ I METODY BADAWCZE

### 3.1. Fermentowana poekstrakcyjna śruta sojowa

W badaniach wykorzystano fermentowaną poekstrakcyjną śrutę sojową (FSBM) z European Protein AS (Bække, Dania). FSBM przygotowano z produktów ubocznych soi, tj. ekstrahowanej rozpuszczalnikiem śruty sojowej (SM, zawierającej 471 g/kg surowego białka), które poddano fermentacji, a następnie wysuszono, z dodatkiem ziemniaków i wybranych bakterii kwasu mlekowego. Skład SM i FSBM wykorzystanych w doświadczeniach przedstawiono w publikacjach Chachaj i in. (2019a,b) oraz Sembratowicz i in. (2020).

### 3.2. Materiał badawczy

Doświadczenia przeprowadzono za zgodą II Lokalnej Komisji Etycznej do Spraw Doświadczeń na Zwierzętach w Lublinie (zgodą nr. 30/2016).

#### **Doświadczenie 1 (Chachaj i in., 2019a; Sembratowicz i in., 2020)**

W doświadczeniu 1 wykorzystano łącznie 600 jednodniowych kurcząt brojlerów Ross 308 (♂) przydzielonych do 3 grup eksperymentalnych po 200 ptaków każda (10 powtórzeń po 20 osobników każda). Grupa kontrolna (C) otrzymywała dietę, w której głównym źródłem białka

była poekstrakcyjna śruta sojowa (SM). W pozostałych grupach doświadczalnych SM została częściowo zastąpiona przez fermentowaną poekstrakcyjną śrutę sojową (FSBM) w ilościach 3% - grupa **FSBM-3%** oraz 6% - grupa **FSBM-6%**. Kurczęta utrzymywano w kojcach na ściółce do wieku 40 dni w budynku o kontrolowanym środowisku i swobodnym dostępie do paszy i wody.

### **Doświadczenie 2 (Chachaj i in., 2019b)**

W doświadczeniu 2 wykorzystano łącznie 800 jednodniowych indyczek BIG 6 przydzielonych do 4 grup eksperymentalnych po 200 ptaków każda (10 powtórzeń po 20 sztuk każda). Grupa kontrolna (FSBM<sub>0</sub>) otrzymywała dietę, w której głównym źródłem białka była poekstrakcyjna śruta sojowa. W pozostałych grupach doświadczalnych SM została częściowo zastąpiona przez fermentowaną poekstrakcyjną śrutę sojową (FSBM) w ilościach 7% - grupa **FSBM<sub>7</sub>**, 9% - grupa **FSBM<sub>9</sub>** oraz 10% - grupa **FSBM<sub>10</sub>**. Indyczki utrzymywano w kojcach na ściółce do 16 tygodnia życia w budynku o kontrolowanym środowisku i swobodnym dostępie do paszy i wody.

## **3.3. Procedury doświadczalne**

### **Doświadczenie 1**

Pod koniec każdego okresu żywienia rejestrowano masy ciała, spożycie paszy i śmiertelność kurcząt. Dla każdej grupy obliczono przyrosty masy ciała (BWG), dzienne spożycie paszy (DFI) i współczynnik konwersji paszy (FCR). Pod koniec doświadczenia, wybrano 9 ptaków reprezentujących średnią masę ciała dla grupy doświadczalnej, oznaczono i głodzono przez 8 godzin. Do badań biochemicznych, immunologicznych i statusu antyoksydacyjnego pobrano próbki krwi z żyły skrzydłowej od 9 ptaków z grupy. Kurczęta uśmiercono, a następnie pobrano wymazy z kloaki oraz treść pokarmową z jelita czczego do badań mikrobiologicznych oraz 2 cm próbki jelita czczego wycięte za uchyłkiem Meckela do badań histomorfometrycznych. Szczegółowe procedury doświadczalne opisano w publikacjach Chachaj i in. (2019a) oraz Sembratowicz i in. (2020).

### **Doświadczenie 2**

Pod koniec każdego okresu żywienia rejestrowano masy ciała, spożycie paszy i śmiertelność indyczek. Dla każdej grupy obliczono przyrosty masy ciała (BWG), dzienne spożycie paszy (DFI) i współczynnik konwersji paszy (FCR). Pod koniec doświadczenia, wybrano 9 ptaków reprezentujących średnią masę ciała dla grupy doświadczalnej, oznaczono i głodzono przez 8 godzin. Do badań biochemicznych, immunologicznych i statusu



antyoksydacyjnego pobrano próbki krwi z żyły skrzydłowej od 9 ptaków z grupy. Indyczki uśmiercono, a następnie pobrano 2 cm próbki jelita czczego wycięte za uchylkiem Meckela do badań histomorfometrycznych. Szczegółowe procedury doświadczalne opisano w publikacji Chachaj i in. (2019b).

### **3.4. Metodyka analityczna**

#### ***Wskaźniki biochemiczne i hematologiczne***

W doświadczeniu 1 i 2 w osoczu krwi oznaczono poziom wskaźników biochemicznych takich jak: białka całkowitego (TP), albuminy (ALB), kwasu moczowego (UA), mocznika (UREA), bilirubiny (BIL), glukozy (GLU), kreatyniny (CREAT), cholesterolu całkowitego (TC), frakcji cholesterolu o dużej gęstości (HDL), trójglicerydów (TG) oraz aktywność wybranych enzymów m.in. aminotransferazy asparaginianowej (AST), aminotransferazy alaninowej (ALT) (Sembratowicz i in., 2020; Chachaj i in., 2019b). Dodatkowo w zakresie wskaźników biochemicznych w doświadczeniu 1 oznaczono aktywność kinazy kreatyninowej (CK) i gammaglutamylotranspeptydazy (GGT) oraz zawartość Zn, Cu i Fe (Sembratowicz i in., 2020), natomiast w doświadczeniu 2 aktywność fosfatazy alkalicznej (ALP), dehydrogenazy mleczanowej (LDH) oraz zawartość Ca, P i Mg (Chachaj i in., 2019b). W doświadczeniu 2 we krwi oznaczono wskaźniki hematologiczne takie jak zawartość hemoglobiny (Hb), hematokryt (Ht), ilość krwinek czerwonych (RBC), ilość krwinek białych (WBC), (Chachaj i in., 2019b).

#### ***Wskaźniki statusu immunologicznego***

W doświadczeniu 1 i 2 w osoczu krwi oznaczono poziom immunoglobulin IgA, IgM i IgY oraz interleukiny 6 (IL-6), (Chachaj i in., 2019a,b). Dodatkowo w doświadczeniu 1 oznaczono poziom lizozymu oraz ceruloplazminy (Cp), (Chachaj i in., 2019a).

#### ***Wskaźniki statusu antyoksydacyjnego***

W doświadczeniu 1 i 2 we krwi oznaczono aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), poziom glutationu całkowitego (GSH+GSSG), dialdehydu malonowego (MDA) i nadtlenków lipidowych (LOOH) oraz całkowity status antyoksydacyjny (FRAP), (Sembratowicz i in., 2020; Chachaj i in., 2019b). Dodatkowo w doświadczeniu 2 oznaczono aktywność peroksydazy glutationowej (GPx) i poziom witaminy C (Chachaj i in., 2019b).

### ***Badanie histomorfometryczne jelit***

Z pobranych fragmentów jelita cienkiego przygotowano techniką parafinową preparaty mikroskopowe o grubości 5  $\mu\text{m}$ , które następnie barwiono hematoksyliną i eozyną (barwienie HE). Do oceny histomorfometrycznej jelita: długości kosmków jelitowych i głębokości krypt jelitowych wykorzystano system komputerowo wspomaganą analizę obrazu mikroskopowego (Chachaj i in., 2019a,b).

### ***Analiza mikrobiologiczna***

W doświadczeniu 1, w treści pokarmowej jelita, określono łączną liczbę mezofilnych bakterii tlenowych, całkowitą liczbę drożdży i pleśni, łączną liczbę bakterii z grupy coli. W pobranych wymazach z kloaki i tuszy wykonano identyfikację na obecność *Salmonella spp.* oraz *Campylobacter spp.* (Chachaj i in., 2019a).

### **3.5. Analiza statystyczna**

Analizę statystyczną zebranych wyników badań przeprowadzono przy użyciu programu statystycznego STATISTICA 13.1PL (Statistica 13.1 software, StatSoft Inc., 2016). W doświadczeniach 1 i 2, uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji ANOVA. Szczegółowy opis modeli statystycznych dotyczących doświadczenia 1 przedstawiono w publikacji Chachaj i in. (2019a) oraz Sembratowicz i in. (2020). Z kolei szczegółowy opis modeli statystycznych dotyczących doświadczenia 2 przedstawiono w publikacji Chachaj i in. (2019b).

## **4. WYNIKI BADAŃ**

Proces fermentacji poekstrakcyjnej śruty sojowej spowodował zwiększenie zawartości białka surowego, *Lactobacillus* (LAB), metioniny, lizyny, kwasu mlekowego oraz zmniejszenie zawartości czynników antyżywniowych (ANF) takich jak inhibitory trypsyny (TI),  $\beta$ -konglicyna i rafinoza w produkcie końcowym (tabela 1), (Chachaj i in., 2019a,b; Sembratowicz i in., 2020).

### **4.1. Wyniki produkcyjne**

W doświadczeniu 1 nie stwierdzono różnic w masie ciała 14-dniowych kurcząt. Zastąpienie SM 6% udziałem FSBM spowodowało zwiększenie masy ciała 32 i 40-dniowych

kurcząt oraz poprawę BWG w porównaniu do kurcząt z grupy kontrolnej. W grupie kurcząt z 6% udziałem FSBM w diecie stwierdzono również wyższy FCR niż u kurcząt z 3% udziałem FSBM (tabela 2), (Chachaj i in., 2019a; Sembratowicz i in., 2020). W doświadczeniu 2 u indyczek, które otrzymywały w diecie 9 lub 10% udziału FSBM stwierdzono większe przyrosty masy ciała (tabela 3), (Chachaj i in., 2019b).

#### **4.2. Ocena histomorfometryczna oraz mikrobiologiczna jelit**

W doświadczeniu 1 u kurcząt otrzymujących w diecie 3 lub 6% udział FSBM stwierdzono zmniejszenie całkowitej liczby mikroorganizmów i całkowitej liczby grzybów w treści pokarmowej jelita cienkiego w porównaniu do grupy kontrolnej. Ponadto u kurcząt z grupy FSBM-6% stwierdzono mniej bakterii z grupy coli w treści pokarmowej jelita cienkiego niż u kurcząt z grupy kontrolnej. W pobranych wymazach z kloaki i tuszy kurcząt ze wszystkich grup doświadczalnych nie stwierdzono obecności *Salmonella spp.* i *Campylobacter spp.* Zastosowanie 6% udziału FSBM w diecie skutkowało zwiększeniem długości kosmków i głębokości krypt w jelicie cienkim kurcząt. Nie stwierdzono istotnych różnic między grupami w stosunku VH: CD (tabela 4), (Chachaj i in., 2019a). W doświadczeniu 2 zastosowanie w diecie indyczek zarówno 7, 9 jak i 10% udziału FSBM skutkowało zwiększeniem długości kosmków (tabela 5), (Chachaj i in., 2019b).

#### **4.3. Status immunologiczny**

W doświadczeniu 1 stwierdzono, że stosowanie w diecie kurcząt 3 i 6% udziału FSBM spowodowało zwiększenie poziomu lizozymu oraz zmniejszenie poziomu IgM i IgY w osoczu krwi. Nie odnotowano natomiast różnic między grupami pod względem zawartości IL-6 i aktywności Cp w osoczu krwi (tabela 6), (Chachaj i in., 2019a). W doświadczeniu 2, w osoczu krwi indyczek otrzymujących w diecie FSBM (szczególnie 10% udział) odnotowano większy poziom IgM niż u indyczek z grupy kontrolnej. Istotnie niższy poziom IgA odnotowano w osoczu krwi indyczek otrzymujących w diecie 7% udział FSBM w porównaniu do indyczek z grup FSBM<sub>9</sub> i FSBM<sub>10</sub>. W osoczu krwi indyczek z grup FSBM<sub>7</sub>, FSBM<sub>9</sub> i FSBM<sub>10</sub> stwierdzono niższy poziom IgY niż u indyczek z grupy kontrolnej. W porównaniu do grupy kontrolnej, wzrost poziomu IL-6 w osoczu krwi zaobserwowano tylko w grupach otrzymujących w diecie 9 i 10% udział FSBM. Analiza hematologiczna krwi indyczek z doświadczenia 2 wykazała, że dieta zawierająca w składzie FSBM, a szczególnie 10% udział stymulowała reakcje erytropoetyczne (tabela 7), (Chachaj i in., 2019b).

#### **4.4. Status antyoksydacyjny**

Analiza wskaźników statusu antyoksydacyjnego we krwi kurcząt z doświadczenia 1 wykazała, że zastosowanie diety z 3 lub 6% udziałem FSBM nie wpływała na aktywność enzymów antyoksydacyjnych SOD i CAT, ani na poziom wskaźników świadczących o peroksydacji lipidów LOOH i MDA. Ustalono natomiast, że zastąpienie SM zarówno 3 jak i 6% udziałem FSBM zwiększało poziom całkowitego potencjału antyoksydacyjnego (FRAP) i jego składnika GSSG + GSH w osoczu krwi kurcząt (tabela 8), (Sembratowicz i in., 2020). W doświadczeniu 2, zastosowanie w diecie indyczek 10% udziału FSBM spowodowało wzrost zawartości LOOH i MDA, aktywności SOD, GPx i CAT oraz obniżenie poziomu FRAP i GSH + GSSG we krwi w porównaniu z grupą kontrolną. U indyczek otrzymujących dietę z 7% udziałem FSBM poziom LOOH i MDA w osoczu był istotnie niższy, podczas gdy poziom FRAP i GSH + GSSG był istotnie wyższy niż w grupie kontrolnej (tabela 9), (Chachaj i in., 2019b).

#### **4.5. Wskaźniki metabolizmu**

Analizy biochemiczne krwi kurcząt wykonane w ramach doświadczenia 1 wykazały, że zastosowanie 3 i 6% udziału FSBM w diecie spowodowało zwiększenie poziomu TP, natomiast zmniejszenie poziomu UREA i BIL w porównaniu z grupą kontrolną. Spośród wszystkich grup doświadczalnych najwyższy poziom TC odnotowano w osoczu krwi kurcząt otrzymujących w diecie 3% udział FSBM, natomiast najniższy poziom tego wskaźnika w osoczu krwi kurcząt otrzymujących w diecie 6% udział FSBM. Włączenie 3 i 6% udziału FSBM do diety spowodowało wzrost poziomu frakcji HDL cholesterolu. W porównaniu do grupy kontrolnej, w osoczu krwi kurcząt otrzymujących w diecie kurcząt 3 lub 6% udział FSBM stwierdzono wzrost aktywności AST. Zastosowanie 3 i 6% udziału FSBM w diecie kurcząt skutkowało wzrostem poziomu Zn, natomiast zastosowanie 6% udziału FSBM spowodowało wzrost zawartości Cu i obniżenie poziomu Fe w osoczu krwi (tabela 10), (Sembratowicz i in., 2020). W doświadczeniu 2 ustalono, że 10% udział FSBM w diecie indyczek spowodował wzrost aktywności enzymów wątrobowych AST i ALT oraz poziomu GLU i CREAT w osoczu krwi w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast 7 i 9% udział FSBM skutkowało zwiększeniem frakcji HDL cholesterolu (tabela 11), (Chachaj i in., 2019b).

## 5. WNIOSKI

1. Zastąpienie poekstrakcyjnej śruty sojowej (SM) fermentowaną poekstrakcyjną śrutą sojową (FSBM) w ilości 3 lub 6% w diecie kurcząt stymulowało ich system immunologiczny i antyoksydacyjny oraz pozytywnie wpłynęło na metabolizm białek.
2. Zastąpienie SM 6% udziałem FSBM okazało się jednak korzystniejsze niż zastąpienie 3% udziałem FSBM, ponieważ poprawiło dodatkowo obraz histomorfometryczny i mikrobiologiczny jelita cienkiego oraz przyrosty masy ciała kurcząt.
3. Zastosowanie 7% udziału FSBM w mieszance paszowej dla indyków poprawiło obraz histomorfometryczny jelita cienkiego oraz stymulowało system immunologiczny i antyoksydacyjny.
4. Zastosowanie wyższych poziomów FSBM (9 i 10%) w diecie indyków wprawdzie poprawiało wyniki wzrostu, ale powodowało niepożądane reakcje utleniania w organizmie i wzrost poziomu IL-6, który może potencjalnie stymulować procesy zapalne w jelitach.
5. Podsumowując można stwierdzić, że udział fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej w mieszankach paszowych dla kurcząt powinien wynosić 6%, natomiast dla indyków 7%. Jednak istnieje potrzeba dalszych badań weryfikujących czy w diecie indyków można zastosować mniejszy tj. 6% udział FSBM uzyskując podobne rezultaty jak w przypadku stosowania 7% udziału FSBM.

## ANEKS – TABELE

**Tabela 1.** Skład surowej (SM) i fermentowanej śruty sojowej (FSBM).

	SM	FSBM
Składniki, g/kg		
Sucha masa	897	895
Białko surowe	471	505
Tłuszcz surowy	20	22
Włókno surowe	36	34
Popiół surowy	65	64
Polisacharydy nieskrobiowe (NSP)	124	114
Kwas mlekowy	2	74
Lizyna	24.6	27.9
Metionina	5.8	6.9
Treonina	17.4	19.8
Tryptofan	6.2	6.4
<i>Lactobacillus</i> , log CFU/g	4.2	6.86
Inhibitory trypsyny (TI)	2.9	<0.5
$\beta$ -konglicyna	58.9	<2
Rafinoza	45	<5

**Tabela 2.** Wyniki produkcyjne kurcząt otrzymujących surową i fermentowaną śrutę sojową (doświadczenie 1)

	Grupa			SEM	P-value
	C	FSBM-3%	FSBM-6%		
BW, g					
dzień 1	42	42	42	0.0001	0.879
dzień 14	388	402	415	0.007	0.281
dzień 32	1505 <sup>b</sup>	1536 <sup>ab</sup>	1567 <sup>a</sup>	0.09	0.035
dzień 40	2106 <sup>b</sup>	2129 <sup>ab</sup>	2136 <sup>a</sup>	0.015	0.021
BWG, kg	2.064 <sup>b</sup>	2.087 <sup>ab</sup>	2.094 <sup>a</sup>	0.017	0.039
DFI, g/szt./dzień	0.086	0.085	0.089	0.004	0.347
FCR, g/g	1.682 <sup>ab</sup>	1.630 <sup>b</sup>	1.700 <sup>a</sup>	0.012	0.041
Przeżywalność, %	98.5	98.0	99.5	–	–

<sup>a, b, ...</sup> Wartości w tym samym wierszu różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$

BW – masa ciała, BWG – średnie przyrosty masy ciała, DFI – dzienne spożycie paszy, FCR – współczynnik konwersji paszy

C – standardowa dieta bez dodatku FSBM, FSBM-3% – dieta zawierająca 3% FSBM, FSBM-6% – dieta zawierająca 6% FSBM

**Tabela 3.** Wyniki produkcyjne indyczek otrzymujących surową i fermentowaną śrutę sojową (doświadczenie 2)

	Grupa				SEM	P-value
	FSBM <sub>0</sub>	FSBM <sub>7</sub>	FSBM <sub>9</sub>	FSBM <sub>10</sub>		
BWG, kg	8.874 <sup>b</sup>	8.995 <sup>ab</sup>	9.128 <sup>a</sup>	9.052 <sup>a</sup>	0.563	0.047
DFI, g/szt./dzień	0.210	0.211	0.220	0.217	0.052	0.987
FCR, kg/kg	2.482	2.462	2.532	2.512	0.264	0.625
Śmiertelność, %	2	1	2	2	–	–

<sup>a, b, ...</sup> Wartości w tym samym wierszu różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$

BWG – średnie przyrosty masy ciała, DFI – dzienne spożycie paszy, FCR – współczynnik konwersji paszy

FSBM<sub>0</sub> – standardowa dieta bez dodatku FSBM, FSBM<sub>7</sub> – dieta zawierająca 7% FSBM, FSBM<sub>9</sub> – dieta zawierająca 9% FSBM, FSBM<sub>10</sub> – dieta zawierająca 10% FSBM

**Tabela 4.** Analiza mikrobiologiczna i histomorfometryczna jelita kurcząt otrzymujących surową i fermentowaną śrutę sojową (doświadczenie 1)

	Grupa			SEM	P-value
	C	FSBM-3%	FSBM-6%		
Całkowita liczba grzybów, CFU/g	45 <sup>a</sup>	23 <sup>b</sup>	14 <sup>c</sup>	0.356	<0.001
Całkowita liczba mikroorganizmów, CFU/g	184545 <sup>a</sup>	19091 <sup>b</sup>	19545 <sup>b</sup>	1.967	<0.001
Całkowita liczba form coli, CFU/g	3636 <sup>a</sup>	3182 <sup>a</sup>	909 <sup>b</sup>	0.987	<0.001
Średnia długość kosmków, μm	1499.5 <sup>b</sup>	1485.9 <sup>b</sup>	1771.6 <sup>a</sup>	0.158	0.013
Średnia głębokość krypt, μm	188.5 <sup>b</sup>	186.8 <sup>b</sup>	212.9 <sup>a</sup>	0.083	0.042
Długość kosmków: głębokość krypt	7.95	7.95	8.32	0.025	0.51

<sup>a, b, c</sup> Wartości w tym samym wierszu różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$

C – standardowa dieta bez dodatku FSBM, FSBM-3% – dieta zawierająca 3% FSBM, FSBM-6% – dieta zawierająca 6% FSBM

**Tabela 5.** Analiza histomorfometryczna jelita indyczek otrzymujących surową i fermentowaną śrutę sojową (doświadczenie 2)

	Grupa				SEM	P-value
	FSBM <sub>0</sub>	FSBM <sub>7</sub>	FSBM <sub>9</sub>	FSBM <sub>10</sub>		
Średnia długość kosmków, μm	1830.3 <sup>b</sup>	2367.6 <sup>a</sup>	2195.3 <sup>a</sup>	2312.9 <sup>a</sup>	12.36	<0.001
Średnia głębokość krypt, μm	167.99 <sup>ab</sup>	145.85 <sup>b</sup>	154.34 <sup>b</sup>	186.71 <sup>a</sup>	6.942	<0.001
Długość kosmków: głębokość krypt	10.89 <sup>b</sup>	16.23 <sup>a</sup>	14.22 <sup>a</sup>	12.39 <sup>ab</sup>	0.14	0.025

<sup>a, b, c</sup> Wartości w tym samym wierszu różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$

FSBM<sub>0</sub> – standardowa dieta bez dodatku FSBM, FSBM<sub>7</sub> – dieta zawierająca 7% FSBM, FSBM<sub>9</sub> – dieta zawierająca 9% FSBM, FSBM<sub>10</sub> – dieta zawierająca 10% FSBM



**Tabela 6.** Wskaźniki immunologiczne krwi kurcząt otrzymujących surową i fermentowaną srućę sojową (doświadczenie 1)

	Grupa			SEM	P-value
	C	FSBM-3%	FSBM-6%		
Lizozym, mg/L	3.084 <sup>b</sup>	3.747 <sup>a</sup>	3.644 <sup>a</sup>	0.135	0.017
IgA, ng/mL	3.313	3.304	3.357	0.055	0.138
IgM, ng/mL	0.096 <sup>a</sup>	0.071 <sup>c</sup>	0.082 <sup>b</sup>	0.023	0.012
IgY, ng/mL	0.132 <sup>a</sup>	0.120 <sup>b</sup>	0.102 <sup>c</sup>	0.036	<0.001
Ceruloplazmina, U/L	0.027	0.028	0.029	0.077	0.447
IL-6, pg/mL	0.172	0.174	0.170	0.126	0.256

<sup>a, b, c</sup> Wartości w tym samym wierszu różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$

IgA – immunoglobulina A; IgM – immunoglobulina M; IgY – immunoglobulina Y; IL-6 – interleukina 6.

C – standardowa dieta bez dodatku FSBM, FSBM-3% – dieta zawierająca 3% FSBM, FSBM-6% – dieta zawierająca 6% FSBM

**Tabela 7.** Wskaźniki immunologiczne krwi indyczek otrzymujących surową i fermentowaną srućę sojową (doświadczenie 2)

	Grupa				SEM	P-value
	FSBM <sub>0</sub>	FSBM <sub>7</sub>	FSBM <sub>9</sub>	FSBM <sub>10</sub>		
WBC ( $10^9/L$ )	22.81	20.81	20.95	21.62	0.894	0.137
RBC ( $10^{12}/L$ )	0.881 <sup>b</sup>	0.931 <sup>ab</sup>	0.916 <sup>ab</sup>	1.012 <sup>a</sup>	0.047	0.042
Hb (g/L)	83.44 <sup>b</sup>	82.00 <sup>b</sup>	88.50 <sup>ab</sup>	94.63 <sup>a</sup>	0.062	0.029
Ht (%)	12.87 <sup>b</sup>	13.74 <sup>ab</sup>	13.34 <sup>ab</sup>	14.50 <sup>a</sup>	0.033	0.051
IgA, ng/mL	29.98 <sup>ab</sup>	21.11 <sup>b</sup>	31.38 <sup>a</sup>	31.58 <sup>a</sup>	0.055	0.037
IgM, ng/mL	637.8 <sup>c</sup>	882.2 <sup>b</sup>	996.4 <sup>ab</sup>	1150.1 <sup>a</sup>	1.094	<0.001
IgY, ng/mL	860.1 <sup>a</sup>	784.5 <sup>b</sup>	711.8 <sup>c</sup>	727.9 <sup>b</sup>	0.752	0.002
IL-6, pg/mL	4.231 <sup>b</sup>	4.134 <sup>b</sup>	5.338 <sup>a</sup>	5.142 <sup>a</sup>	0.483	0.003

<sup>a, b, c</sup> Wartości w tym samym wierszu różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$

WBC – liczba białych krwinek, RBC – liczba czerwonych krwinek, Hb- hemoglobina; Ht – hematokryt; IgA – immunoglobulina A; IgM – immunoglobulina M; IgY – immunoglobulina Y; IL-6 – interleukina 6.

FSBM<sub>0</sub> – standardowa dieta bez dodatku FSBM, FSBM<sub>7</sub> – dieta zawierająca 7% FSBM, FSBM<sub>9</sub> – dieta zawierająca 9% FSBM, FSBM<sub>10</sub> – dieta zawierająca 10% FSBM

**Tabela 8.** Wskaźniki statusu antyoksydacyjnego krwi kurcząt otrzymujących surową i fermentowaną śrutę sojową (doświadczenie 1)

	Grupa			SEM	P-value
	C	FSBM-3%	FSBM-6%		
LOOH, $\mu\text{mol/L}$	17.80	17.00	17.64	0.012	0.234
MDA, $\mu\text{mol/L}$	1.188	1.174	1.194	0.142	0.142
FRAP, $\mu\text{mol/L}$	103.3 <sup>b</sup>	131.9 <sup>a</sup>	139.7 <sup>a</sup>	0.088	<0.001
GSH + GSSG, $\mu\text{mol/L}$	0.188 <sup>b</sup>	0.207 <sup>a</sup>	0.208 <sup>a</sup>	0.007	0.021
SOD, U/mL	25.15	25.08	25.09	0.008	0.209
CAT, U/mL	6.896	6.993	7.022	0.128	0.083

<sup>a, b.</sup> Wartości w tym samym wierszu różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$

LOOH – nadtlenki lipidowe, MDA – dialdehyd malonowy, FRAP – całkowity status antyoksydacyjny, GSH+GSSG – glutation całkowity, SOD – dysmutaza ponadtlenkowa, CAT – katalaza.

C – standardowa dieta bez dodatku FSBM, FSBM-3% – dieta zawierająca 3% FSBM, FSBM-6% – dieta zawierająca 6% FSBM

**Tabela 9.** Wskaźniki statusu antyoksydacyjnego krwi indyczek otrzymujących surową i fermentowaną śrutę sojową (doświadczenie 2).

	Grupa				SEM	P-value
	FSBM <sub>0</sub>	FSBM <sub>7</sub>	FSBM <sub>9</sub>	FSBM <sub>10</sub>		
LOOH, $\mu\text{mol/L}$	89.96 <sup>b</sup>	75.98 <sup>c</sup>	91.43 <sup>b</sup>	103.2 <sup>a</sup>	2.136	0.026
MDA, $\mu\text{mol/L}$	0.689 <sup>b</sup>	0.639 <sup>c</sup>	0.862 <sup>ab</sup>	1.081 <sup>a</sup>	0.431	0.001
FRAP, $\mu\text{mol/L}$	115.2 <sup>b</sup>	136.9 <sup>a</sup>	108.84 <sup>b</sup>	88.65 <sup>c</sup>	3.695	0.001
GSH + GSSG, $\mu\text{mol/L}$	0.186 <sup>b</sup>	0.236 <sup>a</sup>	0.164 <sup>bc</sup>	0.128.6 <sup>c</sup>	0.139	0.033
SOD, U/g Hb	1896.2 <sup>b</sup>	1904.6 <sup>b</sup>	2861.7 <sup>b</sup>	3157.2 <sup>a</sup>	116.9	<0.001
CAT, U/g Hb	485.6 <sup>c</sup>	459.7 <sup>c</sup>	534.2 <sup>b</sup>	614.2 <sup>a</sup>	6.135	0.003
GPx, U/g Hb	95.63 <sup>b</sup>	114.2 <sup>ab</sup>	99.54 <sup>b</sup>	135.24 <sup>a</sup>	1.145	0.001
Wit. C, $\mu\text{mol/L}$	0.842	0.856	0.812	0.832	0.268	0.268

<sup>a, b.</sup> Wartości w tym samym wierszu różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$

LOOH – nadtlenki lipidowe, MDA – dialdehyd malonowy, FRAP – całkowity status antyoksydacyjny, GSH+GSSG – glutation całkowity, SOD – dysmutaza ponadtlenkowa, CAT – katalaza, GPx – peroksydaza glutationowa, Wit. C – witamina C.

FSBM<sub>0</sub> – standardowa dieta bez dodatku FSBM, FSBM<sub>7</sub> – dieta zawierająca 7% FSBM, FSBM<sub>9</sub> – dieta zawierająca 9% FSBM, FSBM<sub>10</sub> – dieta zawierająca 10% FSBM

**Tabela 10.** Wskaźniki metabolizmu krwi kurcząt otrzymujących surową i fermentowaną śrutę sojową (doświadczenie 1)

	Grupa			SEM	P-value
	C	FSBM-3%	FSBM-6%		
TP, g/L	28.29 <sup>b</sup>	32.73 <sup>a</sup>	31.35 <sup>a</sup>	0.036	0.042
ALB, g/L	0.010	0.011	0.010	0.001	0.236
UA, mmol/L	141.2	146.6	142.6	0.024	0.242
UREA, mmol/L	1.366 <sup>a</sup>	1.010 <sup>b</sup>	1.090 <sup>b</sup>	0.232	0.039
BIL, μmol/L	18.06 <sup>a</sup>	12.64 <sup>b</sup>	9.030 <sup>c</sup>	0.087	0.021
GLU, mmol/L	13.67	13.29	13.76	0.036	0.143
CREAT, mmol/L	15.58	15.14	15.54	0.132	0.113
TC, mmol/L	3.054 <sup>ab</sup>	3.297 <sup>a</sup>	2.969 <sup>b</sup>	0.052	0.047
HDL, mmol/L	1.795 <sup>b</sup>	1.832 <sup>a</sup>	1.813 <sup>a</sup>	0.226	0.021
TG, mmol/L	0.560	0.554	0.540	0.062	0.332
AST, U/L	224.1 <sup>b</sup>	264.9 <sup>a</sup>	275.0 <sup>a</sup>	0.216	0.044
ALT, U/L	4.596	4.674	4.665	0.089	0.323
CK, U/L	2720.0	2627.2	2828.7	0.652	0.912
GGT, U/L	27.12	26.09	26.14	0.326	0.125
Zn, μmol/L	71.21 <sup>b</sup>	98.21 <sup>a</sup>	107.5 <sup>a</sup>	0.189	0.001
Cu, μmol/L	2.779 <sup>b</sup>	2.886 <sup>b</sup>	3.129 <sup>a</sup>	0.037	<0.001
Fe, μmol/L	37.50 <sup>a</sup>	35.75 <sup>ab</sup>	21.50 <sup>b</sup>	0.018	<0.001

<sup>a, b</sup> Wartości w tym samym wierszu różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$

TP – białko całkowite, ALB – albumina, UA – kwas moczowy, UREA - mocznik, BIL – bilirubina, GLU – glukoza, CREAT – kreatynina, TC – cholesterol całkowity, HDL – frakcja cholesterolu o dużej gęstości, TG – triacyloglicerole, AST – aminotransferaza asparaginianowa, ALT – aminotransferaza alaninowa, CK – kinaza kreatyninowa, GGT – gammaglutamylotranspeptydaza.

C – standardowa dieta bez dodatku FSBM, FSBM-3% – dieta zawierająca 3% FSBM, FSBM-6% – dieta zawierająca 6% FSBM

**Tabela 11.** Wskaźniki metabolizmu krwi indyczek otrzymujących surową i fermentowaną srućę sojową (doświadczenie 2)

	Grupa				SEM	P-value
	FSBM <sub>0</sub>	FSBM <sub>7</sub>	FSBM <sub>9</sub>	FSBM <sub>10</sub>		
TP, g/L	35.71 <sup>b</sup>	40.68 <sup>a</sup>	41.39 <sup>a</sup>	41.43 <sup>a</sup>	0.023	0.052
ALB, g/L	16.10	16.91	16.06	15.92	0.012	0.639
UA, mmol/L	0.439	0.467	0.432	0.444	0.084	0.128
UREA, mmol/L	0.794	0.717	0.738	0.767	0.236	0.102
BIL, μmol/L	4.114	4.537	4.423	4.258	0.146	0.745
GLU, mmol/L	4.023 <sup>b</sup>	4.584 <sup>ab</sup>	4.662 <sup>ab</sup>	4.853 <sup>a</sup>	0.069	0.048
CREAT, mmol/L	8.634 <sup>c</sup>	9.172 <sup>b</sup>	10.79 <sup>b</sup>	17.27 <sup>a</sup>	1.146	0.047
TC, mmol/L	2.503	2.924	2.518	2.884	0.022	0.647
HDL, mmol/L	0.267 <sup>b</sup>	0.407 <sup>a</sup>	0.368 <sup>a</sup>	0.326 <sup>ab</sup>	0.228	0.035
TG, mmol/L	0.857	0.844	0.847	0.869	0.038	0.287
AST, U/L	190.8 <sup>b</sup>	195.3 <sup>b</sup>	190.1 <sup>b</sup>	237.2 <sup>a</sup>	2.136	0.023
ALT, U/L	7.442 <sup>b</sup>	7.933 <sup>b</sup>	7.891 <sup>b</sup>	12.78 <sup>a</sup>	1.136	0.001
LDH, U/L	1384.9 <sup>ab</sup>	973.2 <sup>b</sup>	1373.6 <sup>ab</sup>	1402.1 <sup>a</sup>	8.136	<0.001
ALP, U/L	752.9	761.7	732.3	738.6	0.964	0.082
Ca, mmol/L	2.545	2.632	2.514	2.476	0.017	0.578
P, mmol/L	2.298	2.324	2.565	2.707	0.024	0.236
Mg, mmol/L	1.494	1.502	1.416	1.594	0.008	0.364

<sup>a, b, c</sup>... Wartości w tym samym wierszu różnią się istotnie przy  $P \leq 0,05$

TP – białko całkowite, ALB – albumina, UA – kwas moczowy, UREA - mocznik, BIL – bilirubina, GLU – glukoza, CREAT – kreatynina, TC – cholesterol całkowity, HDL – frakcja cholesterolu o dużej gęstości, TG – triacyloglicerole, AST – aminotransferaza asparaginianowa, ALT – aminotransferaza alaninowa, LDH – dehydrogenaza mleczanowa, ALP – fosfataza alkaliczna.

FSBM<sub>0</sub> – standardowa dieta bez dodatku FSBM, FSBM<sub>7</sub> – dieta zawierająca 7% FSBM, FSBM<sub>9</sub> – dieta zawierająca 9% FSBM, FSBM<sub>10</sub> – dieta zawierająca 10% FSBM